Pacific Hemostasis (R)

Manual de Instrucciones de

APTT-XL

I. Uso previsto

Pacific Hemostasis® APTT-XL se utiliza para las pruebas del tiempo de tromboplastina parcial activada, y para la valoración de factores basados en TTPA con ácido elágico como activador.

II. Resumen y fundamento

La prueba del TTPA es útil como prueba discriminativa y como prueba cuantitativa para determinar los factores intrínsecos de la coagulación. Se trata de una prueba sencilla y versátil que es sensible a las deficiencias de todos los factores de coagulación del plasma, con la excepción del factor VII. Sin embargo, se utiliza principalmente para detectar deficiencias en los Factores VIII, IX, XI, XII y Precalicreina.

El TTPA también se utiliza para monitorizar tratamientos con heparina, dado que la prolongación del TTPA es directamente proporcional al aumento de la heparina[1,2].

Para realizar la prueba de TTPA, se añade a la muestra un reactivo que contiene un activador plasmático y fosfolípidos. La mezcla se incuba durante 3 minutos a 37 °C para obtener una activación óptima. Se añade cloruro de calcio y se cronometra la formación del coágulo.

III. Reactivo

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Composición: Ácido elágico al 0,003 %, BSA al 0,005 %, fenol al 0,30 %, soluciones tampón al 2,6 %, sales y estabilizantes. Conservar los frascos sin abrir a 2–8 °C. **No congelar.** Los frascos abiertos permanecen estables durante 30 días cuando se conservan a 2–8 °C[9].

Es posible que se forme un sedimento amarillo tras una conservación prolongada. Mezclar con cuidado antes de utilizarlo. Valores erróneos, valores de control de calidad fuera de los intervalos establecidos, o variaciones del color del producto pueden indicar deterioro del mismo. Sin embargo, un funcionamiento deficiente del producto también puede deberse a otros factores de la prueba.

IV. Recogida de muestras

Para las pruebas de coagulación se recomienda utilizar como anticoagulante citrato de trisódico al 3,2 % (0,105 M). Evitar las hemólisis y la contaminación por los fluidos tisulares. Rechazar las muestras con volumen de llenado inferior al 90 % del volumen esperado. Centrifugar la sangre durante 15 minutos a 2500 x g. Realizar la prueba antes de las 2 horas si las muestras han sido conservadas a 22–24 °C. Para más información sobre la recogida y conservación de las muestras, consultar el documento H21-A3 del NCCLS[3].

- No retrasar la mezcla de la sangre con el anticoagulante.
- Evitar la formación de espuma en la muestra.
- Utilizar únicamente recipientes de plástico o de vidrio de borosilicato siliconado.
- Las muestras turbias, ictéricas, lipémicas o hemolizadas pueden generar resultados erróneos.
- La congelación y posterior descongelación del plasma con células residuales puede romper las membranas de las células, afectando adversamente a los resultados.
- Las reacciones inflamatorias agudas pueden acortar los resultados de TTPA debido a la elevada tasa de fibrinógeno.

• Las muestras de plasma con hematocritos fuera del intervalo de 20–55 % pueden no resultar correctamente anticoaguladas y el anticoagulante debe ser ajustado adecuadamente.

V. Procedimiento de la prueba

Material suministrado: APTT-XL Reagent, líquido, 10 x 10 mL o 10 x 4 mL

Material necesario pero no suministrado:

Pacific Hemostasis Calcium Chloride Solution (0.02 M)
Cronómetro
Pipeta de precisión: 0, 1 mL
Controles normales y anormales tales como Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas,Level 1, 2 y 3.

APTT-XL puede utilizarse con métodos manuales, mecánicos, fotoópticos y otros, para la detección de coágulos. Siga las instrucciones del fabricante sobre el uso correcto del instrumento.

Para ensayos manuales:

A. Precalentar el Calcium Chloride (0,02 M) a 37 °C.
B. Poner 0,1 ml de plasma de prueba en la cubeta y precalentar a 37 °C.
C. Añadir 0,1 ml de APTT-XL al plasma de prueba. Mezclar.
D. Incubar la mezcla de plasma y reactivo a 37 ºC durante 3–5 minutos (tiempo de activación).

Para garantizar unos resultados coherentes, analizar todas la muestras de plasma con el mismo tiempo de activación.

E. Añadir fuertemente 0,1 ml de Calcium Chloride precalentado y cronometrar la formación del coágulo.

VI. Control de calidad

Los plasmas normales y anormales, tales como los plasmas de Pacific Hemostasis Coagulation Control, Level 1, 2 y 3, deben ser analizados junto con el plasma del paciente. El Level 1 es un plasma normal, mientras que los Levels 2 y 3 han sido ajustados para simular plasmas moderada
y seriamente deficientes, respectivamente. Debe analizarse un control normal y al menos un control anormal cada día al inicio de las pruebas, y al menos una vez en cada turno, o con cada grupo de ensayos. Asimismo, los controles deben ser analizados con cada cambio de reactivo o cada vez que se haga un ajuste importante del instrumento. En los laboratorios que realizan un elevado número de pruebas de TP y/o TTPA, es necesario realizar una prueba de control al menos cada 40 muestras8. Cada laboratorio debe establecer un intervalo de control que
representa la variación diaria permisible para cada control.

VII. Resultados

Informar de los tiempos de coagulación para cada plasma a la décima de segundo más próxima.

También puede informarse de un intervalo de referencia normal para comparación. No informar de los valores de los pacientes relacionados con los tiempos de coagulación de plasma de control comercial. Dichos controles sólo se utilizan como garantía de calidad del sistema de prueba.

VIII. Limitaciones

El proceso bioquímico de coagulación implica una serie de reacciones que están influenciadas por múltiples condiciones previas a la prueba. Es necesario controlar estas variables si se desea obtener resultados reproductibles[3].

Técnica

• El pH del plasma subirá si éste queda expuesto al aire. Guardar las muestras en frascos tapados.
• APTT-XL está diseñado para funcionar a una temperatura de 37 °C ± 0,5°C. Compruebe frecuentemente la temperatura de todos los elementos calefactores.
• Todo el material del laboratorio debe estar limpio y exento de restos de detergentes.
• Siga cuidadosamente las instrucciones del fabricante sobre el mantenimiento correcto del instrumento.

Sustancias interferentes

• Oxalato de sodio, EDTA y heparina no son anticoagulantes adecuados.
• Es sabido que los contraceptivos orales, los estrógenos, el embarazo, los fármacos derivados de la cumarina, la heparina, la asparaginasa, y la naloxona afectan a los resultados de TTPA[4].

IX. Valores previstos

La valoración de APTT-XL en una población normal dio los siguientes resultados[10]:

	media	**intervalo ±2 DE**
Detec. mecánica	29,9	24,0 – 35,2
Detec. fotoóptica	29,8	24,2 – 36,3

Estos valores sólo deben servir de guía. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo normal de referencia, empleando los instrumentos, los métodos de recogida de sangre y las técnicas de análisis utilizados habitualmente. El intervalo normal de referencia debe restablecerse, o al menos comprobarse, cada vez que se cambie de número de lote del mismo reactivo[3], debiendo establecerse un nuevo intervalo normal de referencia cada vez que se cambie el reactivo, el instrumento, las técnicas de recogida de sangre o el anticoagulante.

X. Características de funcionamiento

Sensibilidad a la heparina

La acción anticoagulante de la heparina depende de muchos factores entre los que se encuentran un nivel adecuado de antitrombina-III, la activación de plaquetas y la subsiguiente liberación del Factor 4 plaquetar durante la preparación de las muestras, la presencia in vivo de otros fármacos, la tasa de metabolismo de la heparina, el modo de administración de la heparina y el retraso en la manipulación de las muestras. Aun cuando se reconozcan estas variables, el laboratorio puede determinar la sensibilidad relativa de un determinado reactivo a la heparina, añadiendo cantidades conocidas de heparina a una mezcla de plasmas normales y luego realizando una prueba de TTPA.

Por ejemplo, los siguientes resultados se obtuvieron en un instrumento fotoóptico con un lote de reactivo APTT-XL: [11]

Conc. de heparina (unid/ml)	TTPA (segundos)
0.0	28.8
0.1	38.3
0.2	50.1
0.3	63.1
0.4	80.9
0.5	98.0

Cada laboratorio debe establecer su propia curva de sensibilidad a la heparina, empleando la misma clase de heparina que utiliza el centro en sus tratamientos. Pueden producirse variaciones debido a las diferencias entre las marcas de heparina, el origen del tejido y la formulación de sales [1,2,5].

Sensibilidad a los factores

Un reactivo de TTPA con una sensibilidad adecuada debe demostrar un tiempo de coagulación prolongado cuando se mezcla con muestras que tienen una actividad <30–40 % de un factor[6,7].

Factor	% actividad	TTPA (segundos)
VIII	< 1%	82.0
VIII	20 %	44.8
IX	< 1%	83.5
IX	20 %	40.9
XI	< 1%	134.2
XI	20 %	47.8
XII	< 1%	>200
XII	20 %	36.2
Precalicreina	< 1%	69.5

Además, la sensibilidad de APTT-XL frente al factor VIII ha sido determinada de la siguiente forma[13,12]:

% Factor VIII	TTPA (segundos)
100%	32.5
70%	34.0
50%	36.9
40%	38.9
30%	40.8
20%	44.4
10%	50.6
5%	56.1
1%	68.1
< 1%	83.6

Estos valores sólo deben servir de guía. Cada laboratorio debe establecer su propio índice de sensibilidad a los factores individuales, empleando los instrumentos, reactivos y técnicas de análisis utilizados habitualmente.

INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

Nº de ref.	**Descripción**	**Contenido**
100402	APTT-XL	10 x 4 ml
100403	APTT-XL	10 x 10 mL
100304	CaCl2 (0,02M)	10 x 10 mL

GARANTÍA LIMITADA DE FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) garantiza al comprador que sólo los productos de Fisher Diagnostics funcionarán tal y como se describe en sus etiquetas y documentación. El comprador debe determinar si los productos de Fisher Diagnostics son idóneos para sus aplicaciones específicas. La única obligación de Fisher Diagnostics será, a su elección, la sustitución de un producto defectuoso o que no cumpla con las especificaciones, o bien la devolución del precio de compra. FD RECHAZA CUALQUIER OTRA GARANTÍA, SEA EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUYENDO LAS GARANTÍAS DE COMERCIABILIDAD E IDONEIDAD PARA CUALQUIER PROPÓSITO DETERMINADO. Ni FD ni sus afiliados podrán ser considerados responsables, en ningún caso, por las pérdidas o daños incidentales o consecuentes.

Pacific Hemostasis® es una marca registrada de Fisher Scientific Company L.L.C.
Fisher Diagnostics® es una marca registrada de Fisher Scientific Company L.L.C.

XI. Bibliografía

1. Brandt, J.T, Triplett, D.A.: Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments in the Activated Partial Thromboplastin Time. *Amer J Clin Path* 76:530, 1981.
2. Thompson, J.M.: The Control of Heparin Therapy by the Activated Partial Thromboplastin Time. Sensitivity of Various Thromboplastins to Heparin. *Standardization of Coagulation Assays: An Overview.* Edited by D.A. Triplett, College of American Pathologists, Skokie, Ill. 1982, pp 195.
3. NCCLS: *Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays.* 3rd edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA, 1998.
4. Young, D.S., Thomas, D.W., Friedman, R.B., et al: Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests. *Clin Chem* 18:1041, 1972.
5. Banez, E.L., Triplett, D.A., Koepke, J.: Laboratory Monitoring of Heparin Therapy. The Effect of Different Salts of Heparin on the Activated Partial Thromboplastin Time. *Amer J Clin Path* 74:569, 1980.
6. Wujastyk, J., Triplett, D.A.: Selecting Instrumentation and Reagents for the Coagulation Laboratory. *Pathologist* 37:398, 1983.
7. Christensen, R.L., Triplett, D.A.: Factor Assay (VIII and IX) Results in the College of American Pathologists Survey Program (1980-1982). *Amer J Clin Path* 80 (Suppl): 633, 1983.
8. NCCLS: One-Stage Prothrombin time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline. NCCLS Document H47-A. NCCLS, Wayne, PA, 1996.
9-13. Información procedente de un archivo de 510(K).

Fisher Diagnostics®
Fisher Scientific Company L.L.C.
8365 Valley Pike
Middletown, VA 22645-0307, EE.UU.
1-(800)-528-0494 sólo en EE.UU.
EC REP
MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
R.U.